

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
Please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-191616

(43)Date of publication of application : 11.07.2000

(51) Int. Cl.

C07C237/22
A61K 31/00
A61K 31/165
A61K 31/34
A61K 31/35
C07D307/84
C07D307/87
C07D311/66

(21)Application number : 10-367522 (71)Applicant : SENJU PHARMACEUT CO LTD

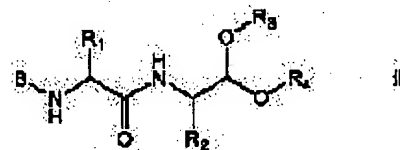
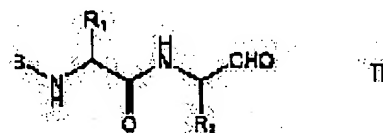
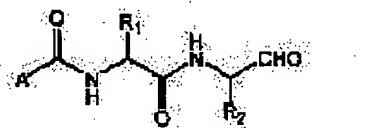
(22)Date of filing : 24.12.1998 (72)Inventor : SAKAI YUSUKE
INOUE ATSUSHI

(54) NEW PEPTIDYLALDEHYDE DERIVATIVE AND MEDICINE CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new compound, represented by a specific formula, having a free radical capturing activity and a calpain inhibiting activity and useful as a medicine useful for preventing and treating cytopathy.

SOLUTION: This compound is represented by formula I (A is an organic compound residue having a free radical capturing activity; R₁ and R₂ are each H or a lower alkyl) or its pharmacologically acceptable salt, e.g. 2-((6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-yl)carbonylamino)-3-methyl-N-(1-(2-methylpropyl)-2-oxoethyl)butanamide. Furthermore, the compound is obtained by passing a reaction for reacting an aldehyde derivative represented by formula II (B is a substituent group used as a protecting group of amino group) with an alcohol under acidic conditions and then providing an acetal derivative represented by formula III (R₃ and R₄ are each a lower alkyl, benzyl or the like).



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's
decision of rejection][Kind of final disposal of application
other than the examiner's decision of
rejection or application converted
registration]

[Date of final disposal for
application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998, 2000 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-191616

(P2000-191616A)

(43) 公開日 平成12年7月11日 (2000.7.11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード ⁸ (参考)
C 0 7 C 237/22		C 0 7 C 237/22	4 C 0 3 7
A 6 1 K 31/00	6 3 9	A 6 1 K 31/00	6 3 9 C 4 C 0 6 2
	6 4 3		6 4 3 D 4 C 0 8 6
31/165	6 0 1	31/165	6 0 1 4 C 2 0 6
31/34	6 0 2	31/34	6 0 2 4 H 0 0 6

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-367522

(22) 出願日 平成10年12月24日 (1998. 12. 24)

(71) 出願人 000199175

千寿製薬株式会社

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

(72) 発明者 境 祐輔

兵庫県神戸市西区池上1丁目12番地の1

A-1006号

(72) 発明者 井上 淳

兵庫県神戸市須磨区白川字不計1番地の6

ルイシャトレ須磨名谷603号

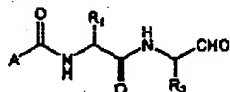
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規ジペプチルアルデヒド誘導体およびそれを含有する医薬

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】カルバイン阻害活性とフリーラジカル捕捉活性を有し、種々の細胞障害の予防・治療に有用なジペプチルアルデヒド誘導体を提供する。

【解決手段】一般式(1)



(1)

【式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表す。】で示されるジペプチルアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩でAは、フェノール誘導体、ベンゾフラン誘導体またはベンゾピラン誘導体から選択される化合物である。

(2)

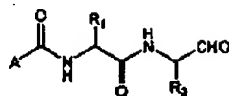
特開2000-191616

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】一般式(1)

【化1】



(1)

【式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表す。】で示されるジペプチジルアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

【請求項2】有機化合物残基が、フェノール系化合物である。請求項1に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

【請求項3】フェノール系化合物が、フェノール誘導体、ベンゾフラン誘導体またはベンゾピラン誘導体から選択される化合物である請求項2に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

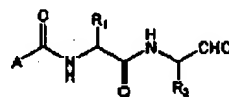
【請求項4】フェノール誘導体が2,6-ビス(tert-ブチル)フェノール、2,3,5-トリメチルベンゼン-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-ビニルベンゼン-1,4-ジオールから選択される化合物である請求項3に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

【請求項5】ベンゾフラン誘導体が2,4,6,7-тетрамethylオキサインダン-5-オール、3,4,5,6-тетрамethylオキサインダン-5-オール、6-メチル-1,3-ジヒドロイソベンゾフラン-4,5,6-トリオールから選択される化合物である請求項3に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

【請求項6】ベンゾピラン誘導体が2,5,7,8-тетрамethylクロマンである請求項3に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩。

【請求項7】一般式(1)

【化2】



(1)

【式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表す。】で示されるアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩を有効成分として含有する医薬。

【請求項8】細胞障害の予防・治療剤である請求項7に

記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はフリーラジカル捕捉活性とカルバイン阻害活性を有する新規化合物に関する。更に本発明は、フリーラジカル捕捉活性とカルバイン阻害活性を有する化合物を有効成分とする医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】蛋白質を分解するプロテアーゼの中でも、酵素の活性中心にシステイン残基を有するものをシステインプロテアーゼという。代表的なものとして細胞質に存在するカルバイン等が挙げられる。カルバインは、生体内に広く存在し、カルシウムイオンによって活性化され、中性付近に至るpHを持つ。この酵素の生理的な役割には不明なことも多いが、現在まで明らかにされているのは、細胞骨格蛋白質の分解、プロテインキナーゼC等の不活性細胞前駆体の活性化、レセプター蛋白質の分解等である。さらにこの酵素の活性異常が多くの疾患に関与している事が明らかとなってきた。例えば、脳卒中、クモ膜下出血、アルツハイマー病、虚血性疾患、筋ジストロフィー、白内障、血小板凝集、関節炎、骨粗鬆症等の難治性疾患への関与が示唆されている。

【Trends in Pharmacological Sciences, 15巻、412頁(1994年)】。

【0003】これまで、カルバイン阻害作用を有するものとして、ペプチドアルデヒド誘導体(特開平6-287167)、ペプチドジアゾメタン誘導体[Biochem. J., 253巻、751~758頁(1988年)、J. Med. Chem., 35巻、216~220頁(1992年)]、ペプチドジスルフィド誘導体[Chem. Lett., 191~194頁(1990年)]等のペプチド類の他、イソクマリン誘導体(WO 92/11850)、KP-1241(特開平6-41067)等の非ペプチド性化合物も報告されている。

【0004】また近年、虚血による脳細胞および神経細胞の障害時におけるカルバインの関与が明らかになり、上記阻害剤の有効性が明らかにされた(Raymond T., Bartus, Stroke, 25巻、2265~2270頁(1994年))。

【0005】脳細胞および神経細胞障害の原因としては上記の虚血の他に外傷、炎症、光障害、退行変性症状等があるが、これらにより誘導されたストレスによる細胞内プロテアーゼの活性化や酸化性障害が、脳や神経の細胞死を引き起こし細胞機能を喪失させる引き金となる。このことにより細胞は破壊されて組織障害、器官障害、器官機能の喪失を招くことになる。それら機能の喪失は急性障害によっても慢性障害によっても引き起こされる[Prog. Neuro-Psychopharmacol. and Biol., 16巻、23~30頁(1993年)、Psych., 17巻、21~70頁(1993年)]。

【0006】フリーラジカル捕捉活性を有する有機化合

(3)

特開2000-191616

物が、細胞ストレスに伴う酸化性障害に対して保護作用を有することが多くの論文で論じられている〔Arch. Pharmacol., 325巻, 129~146頁(1992年)、Free Rad. Biol. Med., 11巻, 215~232頁(1991年)、Eur. J. Pharmacol., 210巻, 85~90頁(1992年)〕。また、とくに虚血性神経障害に対する保護物質として、例えばアラキドン酸カスケードに関する酵素阻害剤、イオンチャンネルブロッカー、PAF拮抗剤、ニューロトロフィン、成長因子、カルバイン阻害剤および抗酸化剤等の多くのクラスの化合物が知られている〔J. Clin. Neurosci., 4巻(3号), 290~310頁(1997年)〕。上記したようにこれまで多くの虚血性神経障害に対する保護物質が見いだされてきたが、それらを同時に二重三重に患者に投与することは、薬剤の代謝及び分配において大きな不安定要素になりうる。そのため、それらの長所を一つの分子内に兼ね備えた化合物を指向し、研究を行った。これまでのカルバイン阻害剤の研究においてはその抗酸化能についての知見は得られておらず、カルバイン阻害活性を保存したまま有力な抗酸化作用を有する、優れた薬剤の創出が望まれた。

[0007]

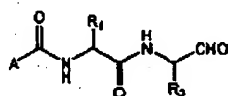
【発明が解決しようとする課題】カルバイン阻害活性とフリーラジカル捕捉活性を有し、種々の細胞障害の予防・治療に有用な新規化合物を開発することである。

[0008]

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記課題を解決するため鋭意研究を行った。その結果、下記一般式：

[0009]

[化3]



(1)

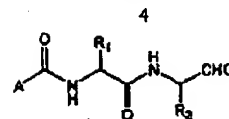
【0010】〔式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁、およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表わす。〕で示されるジベプチルアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩がカルバイン阻害活性とフリーラジカル捕捉活性を併せ持つことを見出し本発明を完成した。

[0011]

【発明の実施の形態】すなわち、本発明は、一般式：

[0012]

[化4]

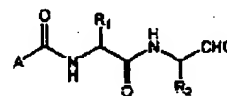


(1)

【0013】〔式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁、およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表わす。〕で示されるジベプチルアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、有機化合物残基が、フェノール系化合物である。上記(1)に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、(3)フェノール系化合物が、フェノール誘導体、ベンゾフラン誘導体またはベンゾピラン誘導体から選択される化合物である上記(2)に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、(4)フェノール誘導体が2,6-ビス(tert-ブチル)フェノール、2,3,5-トリメチルベンゼン-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-ビニルベンゼン-1,4-ジオールから選択される化合物である上記(3)に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、(5)ベンゾフラン誘導体が2,4,6,7-テトラメチルオキサインダン-5-オール、3,4,5,6-テトラメチルオキサインダン-5-オール、6-メチル-1,3-ジヒドロイソベンゾフラン-4,5,6-トリオールから選択される化合物である上記(3)に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、(6)ベンゾピラン誘導体が2,5,7,8-テトラメチルクロマンである上記(3)に記載の誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩、(7)一般式(1)

[0014]

[化5]



(1)

【0015】〔式中、Aはフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基であり、R₁、およびR₂はそれぞれ水素または低級アルキル基を表わす。〕で示されるアルデヒド誘導体またはその薬剤学的に許容し得る塩を有効成分として含有する医薬、および(8)細胞障害の予防・治療剤である上記(7)に記載の医薬に関するものである。

【0016】上記一般式(1)中、Aで表されるフリーラジカル捕捉活性を有する有機化合物残基としては、フリーラジカル捕捉活性を有するものであればいずれの化合物でもよいが、特にフリーラジカル捕捉活性を有する

(4)

特開2000-191616

5

フェノール系化合物が好ましい。フェノール系化合物としては、フェノール誘導体、ベンゾフラン誘導体およびベンゾピラン誘導体が好適である。フェノール誘導体としては、例えば2,6-ビス(tert-ブチル)フェノール、2,3,5-トリメチルベンゼン-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-1,4-ジオール、2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-ビニルベンゼン-1,4-ジオール等が例示され、ベンゾフラン誘導体としては、例えば2,4,6,7-テトラメチルオキサインダン-5-オール、3,4,5,6-テトラメチルオキサインダン-5-オール、6-メチル-1,3-ジヒドロイソベンゾフラン-4,5,6-トリオール等が例示され、ベンゾピラン誘導体としては、例えば2,5,7,8-テトラメチルクロマン等が例示される。

【0017】上記一般式(Ⅰ)中、 R_1 および R_2 で表される低級アルキル基としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル、4-メチルペンチル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、2-エチルブチル等が挙げられる。好ましくは、メチル、イソプロピル、イソブチルである。 R_1 および R_2 で表される、低級アルキル基は置換基を有していてもよく、置換基としては、アリール基、シクロアルキル基および芳香族複素環基等が挙げられる。アリール基としては、例えばフェニル、1-ナフチル、2-ナフチル等が挙げられ、好ましくはフェニルである。シクロアルキル基としては、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等が挙げられ、好ましくはシクロヘキシルである。芳香族複素環基としては、酸素、窒素およびイオウ原子で置換された短環式複素環基および縮合型複素環基が挙げられる。短環式複素環基としては、例えばピロリル、フラニル、チオフェニル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、ビリジン等が挙げられ、縮合型複素環基としては、例えばインドリル、キノリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾフラニル、インダゾリル、キナゾリル、フタラジニル、キノキサリニル等が挙げられ、とりわけインドリルが好ましい。 R_1 および R_2 で表される、置換されていてもよい低級アルキル基の好適な具体例としては、イソプロピル、イソブチル、ベンジル、シクロヘキシルメチル、インドール-3-イルメチルである。

【0018】本発明における一般式(Ⅰ)で表される化合物の塩としては、生理学的に許容される塩が好ましく、例えば無機塩基との塩(例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩)、無機酸との塩(例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩

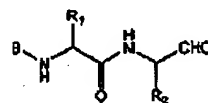
6

等)及び有機酸との塩(例えば酢酸塩、クエン酸塩、トルエンスルホン酸塩等)が挙げられるが、これらに限定されない。更に、本発明は、上記一般式(Ⅰ)で表される化合物及びその塩の各種の溶媒和や結晶多形の物質をも包含する。

【0019】本発明の一般式(Ⅰ)で示される化合物は、公知のペプチド合成法とアルデヒド基のアセタール化および脱アセタール化を組み合わせる方法等によって製造することができ、例えば、一般式(Ⅱ)

【0020】

【化6】

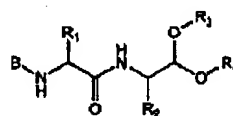


(II)

【式(Ⅱ)中、Bは通常アミノ基の保護基として用いられる置換基を表し、 R_1 および R_2 は前記と同義である。】で表されるアルデヒド誘導体を酸性条件下、アルコールと反応させ一般式(Ⅲ)

【0021】

【化7】



(III)

【0022】【式(Ⅲ)中、B、 R_1 および R_2 は前記と同義であり、 R_3 、 R_4 は低級アルキル基またはベンジル基を示し、又は連結して環を形成していてもよい。】で表されるアセタール誘導体とする。上記一般式(Ⅱ)中、Bで表されるアミノ基の保護基として用いられる置換基としては、例えばベンジロキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメトキシカルボニル等が挙げられる。酸性条件下としては、酢酸、p-トルエンスルホン酸、カンファスルホン酸、p-トルエンスルホン酸ビリジニウム塩、トリメチルシリルクロライド等の有機酸、塩酸、硫酸等の無機酸あるいは陰イオン交換樹脂の存在下等が挙げられるが、好ましくはp-トルエンスルホン酸の存在下である。上記反応で用いられるアルコールとしては、メタノール、エタノール、ベンジルアルコール、エタン-1,2-ジオール、プロパン-1,3-ジオール、2,2-ジメチルプロパン-1,3-ジオール等が挙げられるが、好ましくは、エタン-1,2-ジオールである。反応溶媒としては、ベンゼン、トルエン等のような反応に悪影響をおよぼさない慣用の溶媒またはそれらの混合溶媒が挙げられるが、好ましくはベンゼンである。反応温度は、通

(5)

特開2000-191616

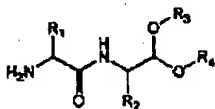
7

常、冷却下から加温下の範囲であり、好ましくは、室温から還流温度の範囲である。

【0023】次に、一般式(III)で表される化合物のアミノ保護基を脱保護することにより、一般式(IV)

【0024】

【化8】



(IV)

【0025】【式(IV)中、R₁、R₂、R₃およびR₄は前記と同義である。】で表されるアミン誘導体を合成する。脱保護条件としては、酸加水分解、接触還元等が挙げられるが、好ましくは、接触還元である。

【0026】次に、一般式(IV)で表される化合物またはそのアミノ基における反応性誘導体またはその塩と、

一般式(V)

【0027】

【化9】

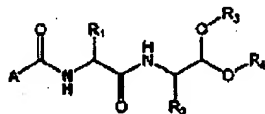


(V)

【0028】【式(V)中、Aは前記と同義である。】で表されるカルボン酸またはそのカルボキシル基における反応性誘導体またはその塩を縮合させることにより、一般式(VI)

【0029】

【化10】



(VI)

【0030】【式(VI)中、AおよびR₁、R₂、R₃、R₄は前記と同義である。】で表されるN-置換ジベプチルアセタール誘導体を合成する。

【0031】上記反応において、一般式(IV)で表される化合物のアミノ基における好適な反応性誘導体としては、一般式(IV)で表される化合物とアルデヒド、ケトン等のようなカルボニル化合物との反応によって生成するシッフ塩基型イミノまたはエナミン型互変異性体、または、一般式(IV)で表される化合物とビス(トリメチルシリル)アセトアミド、モノ(トリメチルシリル)アセトアミド、ビス(トリメチルシリル)尿素等のようなシリル化合物との反応によって生成するシリル誘導体、または、一般式(IV)で表される化合物と三塩化リンまたはホスゲンとの反応によって生成する誘導体等が挙げ

8

られる。一般式(IV)で表される化合物およびその反応性誘導体の好適な塩としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、例えばギ酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、フマル酸塩、シュウ酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等の有機酸塩が挙げられる。これら反応性誘導体の塩は、使用する一般式(IV)で表される化合物の種類によって任意に選択することができる。

10

【0032】上記反応において、一般式(V)で表される化合物のカルボキシル基における好適な反応性誘導体としては、酸ハロゲン化物、酸無水物、活性化アミド、活性化エステル等が挙げられる。酸ハロゲン化物としては酸塩化物等が挙げられ、酸無水物としては、例えば置換されたリン酸(ジアルキルリン酸、フェニルリン酸、ジフェニルリン酸、ジベンジルリン酸、ハロゲン化リン酸等)、ジアルキル亜リン酸、亜硫酸、チオ硫酸、硫酸、スルホン酸(メタンスルホン酸等)、脂肪族カルボン酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、ピバリン酸、ペンタン酸、イソペンタン酸、トリクロロ酢酸等)または芳香族カルボン酸(安息香酸等)のような酸との混合酸無水物または対称酸無水物等が挙げられる。活性化アミドの好適な例としては、例えばイミダゾール、4-

20

置換イミダゾール、ジメチルピラゾール、トリアゾールまたはテトラゾール等が挙げられる。活性化エステルの好適な例としては、例えばシアノメチルエステル、メトキシメチルエステル、ジメチルイミノメチルエステル、ビニルエステル、プロパルギルエステル、p-ニトロフェニルエステル、トリクロロフェニルエステル、ペンタクロロフェニルエステル、メチルフェニルエステル、フェニルアゾフェニルエステル、フェニルチオエステル、p-ニトロフェニルチオエステル、p-クレジルチオエステル、カルボキシメチルチオエステル、ピラニルエステル、ヒリジルエステル、8-キノリルチオエステル、またはN,N-ジメチルヒドロキシアミン、1-

30

ヒドロキシ-2-(1H)-ヒリドン、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシ-1H-ベンゾトリアゾール等のN-ヒドロキシ化合物とのエステル等が挙げられる。一般式(V)で表される化合物およびその反応性誘導体の好適な塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩、ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩、例えばトリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ピリジン塩、ピコリン塩、エタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N,N-ジベンジルエチレンジアミン塩等の有機塩基塩等のような塩基塩が挙げられる。これら反応性誘導体は、使用する一般式(V)で表される化合物の

40

【0033】上記反応において、一般式(IV)で表される化合物のアミノ基における好適な反応性誘導体としては、一般式(IV)で表される化合物とアルデヒド、ケトン等のようなカルボニル化合物との反応によって生成するシッフ塩基型イミノまたはエナミン型互変異性体、または、一般式(IV)で表される化合物とビス(トリメチルシリル)アセトアミド、モノ(トリメチルシリル)アセトアミド、ビス(トリメチルシリル)尿素等のようなシリル化合物との反応によって生成するシリル誘導体、または、一般式(IV)で表される化合物と三塩化リンまたはホスゲンとの反応によって生成する誘導体等が挙げ

50

(6)

特開2000-191616

9

種類によって任意に選択することができる。

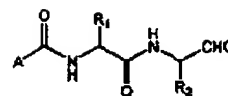
【0033】本反応において、一般式(V)で表される化合物を遊離の形またはその塩の形で使用する場合には、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-モルホリノエチルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-（4-ジエチルアミノシクロヘキシル）カルボジイミド、N,N'-ジエチルカルボジイミド、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド、N,N'-カルボニルビス（2-メチルイミダゾール）、ペンタメチレンケテン-N-シクロヘキシルイミン、ジフェニルケテン-N-シクロヘキシルイミン、エトキシアセチレン、1-アルコキシ-1-クロロエチレン、亜リン酸トリメチル、ポリリン酸エチル、ポリリン酸イソプロピル、オキシ塩化リン、ジフェニルホスホリルアジド、塩化チオニル、塩化オキサリル、例えば、クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソプロピル等のハロギ酸低級アルキル、トリフェニルホスフィン、2-エチル-7-ヒドロキシベンズイソキサゾリウム塩、2-エチル-5-（m-スルホフェニル）イソキサゾリアゾール、1-（p-クロロベンゼンスルホニル）オキシ-6-クロロ-1H-ベンゾトリアゾール、N,N'-ジメチルホルムアミドと塩化チオニル、ホスゲン、クロロギ酸トリクロロメチル、オキシ塩化リン等との反応によって調製したいわゆるビルスマイヤー試薬等のような常用の縮合剤の存在下に反応を行うのが望ましい。

【0034】上記反応において、化合物(IV)と(V)で表される化合物の反応は通常、水、例えばメタノール、エタノール等のアルコール類、アセトン、ジオキサソラン、アセトニトリル、クロロホルム、塩化メチレン、塩化エチレン、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、N,N'-ジメチルホルムアミド、ピリジンのような常用の溶媒中で行われるが、反応に悪影響を及ぼさない溶媒であればその他のいかなる有機溶媒中でも反応を行うことができる。これら常用の溶媒はそれぞれの混合物として使用してもよい。反応はまたアルカリ金属炭酸水素塩、トリ（低級）アルキルアミン、ピリジン、N-（低級）アルキルモルホリン、N,N'-ジ（低級）アルキルベンジルアミン等のような無機塩基または有機塩基の存在下に行ってもよい。反応温度は特に限定されないが、通常は冷却下、室温または加温下に反応が行われる。最後に、一般式(VI)で表される化合物のアセタール部位を加水分解することにより、目的とする一般式(1)

【0035】

【化11】

10



(1)

【0036】【式(1)】中、A、R₁ および R₂ は前記と同義である。】で表されるペプチジルアルデヒド誘導体を合成する。アセタール部位の加水分解の条件としては、トリフルオロ酢酸、酢酸、p-トルエンスルホン酸、蔞酸等の有機酸、塩酸、硫酸等の無機酸あるいは、塩化第二鉄、亜鉛、トリメチルシリルイオダイド、ビスアセトニトリルジクロロパラジウム等のルイス酸存在下に酸加水分解する方法等が挙げられる。好ましくは、ビスアセトニトリルジクロロパラジウム存在下での加水分解である。

【0037】本発明の化合物は、フリーラジカル捕捉活性およびカルバイン阻害活性を併せ持つため、当該化合物を含有する医薬はフリーラジカルおよびカルバインに起因して誘発される細胞障害の予防および治療剤として有利に利用できる。フリーラジカルおよびカルバインに起因して誘発される細胞障害に起因する各種疾病、例えば白内障、網膜障害、遺伝変性的疾患、黄斑部変性、眼球虚血、血管新生疾患、緑内障、虚血再灌流損傷、光学的損傷、および、目の手術による損傷、虚血性神経細胞障害等の予防および治療剤として有用である。

【0038】本発明の医薬は、経口的にあるいは非経口的に適宜に使用される。製剤の形態としては、例えば錠剤、顆粒、散剤、カプセル剤、軟膏剤等の固形製剤または注射剤や点眼剤等の液剤のいずれにも、公知の方法により適宜調製することができる。これら製剤には通常用いられる賦形剤、結合剤、崩壊剤、分散剤、吸収促進剤、緩衝剤、界面活性剤、溶解補助剤、保存剤、乳化剤、等張化剤、安定化剤およびpH調整剤等の各種添加剤を適宜使用してもよい。

【0039】本発明の医薬を細胞障害の予防・治療薬として使用する場合、その用量は、対象とする疾患の種類、使用する化合物の種類、患者の年齢、体量、適応症状およびその剤型等によっても異なるが、例えば内服剤の場合は、成人1日数回、1回量約1mg~100mg程度投与するのがよい。また、注射剤の場合は、成人1日1回約0.1mg~30mg程度投与するのがよい。さらに、点眼剤の場合は本化合物を約0.01w/v%~1.0w/v%、好ましくは約0.05w/v%~0.5w/v%含有する点眼剤を、症状に応じて、1回1~数滴、1日1~4回程度投与するのがよい。

【0040】本発明の医薬には、本発明の目的に反しない限り、その他の細胞障害の予防・治療薬成分、または他の薬効成分を適宜含有させてもよい。

50 【0041】

(7)

特開2000-191616

11

【実施例】次に実施例、試験例および製剤例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお実施例の化合物の物性値において、プロトン核磁気共鳴スペクトル (NMR) は、Varian Gemini 12000 (300MHz) を、融点は、Shibata MEL-270 を用いてそれぞれ測定したものである。

【0042】実施例1 2-((6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-イル)カルボニルアミノ)-3-メチル-N-(1-(2-メチルプロピル)-2-オキソエチル)ブタンアミド (化合物1) ステップ1

N-ベンジルオキシカルボニル-L-バリエル-L-ロイシナール (2.00 g, 5.74 mmol) のベンゼン溶液 10 mL にエチレングリコール (1.07 g, 17.22 mmol) と、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (0.43 g, 1.72 mmol) を加え約2時間加熱還流した。生成する水はディーンスターク管を用いてトラップした。反応液の溶媒を留去したのち 100 mL の酢酸エチルに溶解し、100 mL の飽和重曹水で2回、100 mL の飽和食塩水で1回洗浄した。得られた有機層を硫酸マグネシウムで乾燥したのち、溶媒を留去して N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチル-2-((フェニルメトキシ)カルボニルアミノ)ブタンアミド (1.87 g, 83%) を白色固体として得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) : 0.76-0.84 (12H, m), 1.16-1.38 (2H, m), 1.55 (1H, m), 1.87-1.97 (1H, m), 3.70-4.01 (6H, m), 4.68 (1H, d, J = 3.1 Hz), 5.00 (2H, dd, J = 21.5, 12.5 Hz), 7.17 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.28-7.34 (5H, s), 7.52 (1H, d, J = 9.5 Hz)。

【0043】ステップ2

N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチル-2-((フェニルメトキシ)カルボニルアミノ)ブタンアミド (1.85 g, 4.71 mmol) の 50 mL エタノール溶液に、窒素雰囲気下、5%パラジウム炭素 (0.50 g) を加え、室温常圧下にて一昼夜接触還元をおこなった。反応液をろ過後、ろ液を乾固して 2-アミノ-N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチルブタンアミド (1.20 g, 98%) を白色固体として得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) : 0.72-0.86 (12H, m), 1.16-1.64 (5H, m), 1.84-1.90 (1H, m), 2.93 (1H, d, J = 4.7 Hz), 3.72-3.89 (4H, m), 3.94-4.03 (1H, m), 4.70 (1H, d, J = 3.1 Hz), 7.58 (1H, d, J = 9.6 Hz)。

【0044】ステップ3

(S)-(+)-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸 (5.0 g, 19.98 mmol) とヒドロキシスクシンイミド (2.99 g, 25.97 mmol) をテトラヒドロフラン (100 mL

12

L) に溶解し氷冷した。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (4.98 g, 25.97 mmol) を 100 mL の塩化メチレンに溶解し、トリエチルアミン (2.63 g, 25.97 mmol) とともに反応液に加え室温にて終夜攪拌した。反応後、反応液はクロロホルム 100 mL に溶解し1規定塩酸 200 mL で3回、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL で1回および飽和食塩水 100 mL で1回洗浄した。得られた有機層を硫酸マグネシウムで乾燥したのち、溶媒を乾固した。40 mL のヘキサン：酢酸エチル = 3 : 1 を用いて再結晶をおこない、さらに 180 mL の上記溶媒で洗浄を繰り返し、2,5-ジオキソピロリジニル-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボキシレート白色結晶 (3.54 g, 51%) として得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) : 1.69 (3H, s), 1.89-2.03 (7H, m), 2.39-2.47 (1H, m), 2.64-2.66 (2H, m), 2.75 (4H, s), 7.53 (0.5H, s)。

【0045】ステップ4

2-アミノ-N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチルブタンアミド (0.75 g, 2.17 mmol) を 50 mL の塩化メチレンに溶解し、2,5-ジオキソピロリジニル-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボキシレート (0.56 g, 2.17 mmol) をトリエチルアミン (0.66 g, 6.51 mmol) とともに反応液に加え室温にて終夜攪拌した。反応液は減圧下、溶媒を留去したのち酢酸エチル 100 mL に溶解し、1規定塩酸 100 mL で2回、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 100 mL で1回および飽和食塩水 100 mL で1回洗浄した。得られた有機層を硫酸マグネシウムで乾燥したのち、溶媒を減圧除去し褐色オイルとして N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-2-((6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-イル)カルボニルアミノ)-3-メチルブタンアミド (1.11 g, 定量的) を得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) : 0.30 (3H, d, J = 6.9 Hz), 0.49 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.78-0.86 (8H, m), 1.22-1.36 (2H, m), 1.38 (3H, s), 1.48-1.51 (1H, m), 1.68-1.72 (1H, m), 1.95 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.21-2.60 (2H, m), 3.71-3.83 (4H, m), 3.96-4.02 (1H, m), 4.18 (1H, dd, J = 9.1, 5.2 Hz), 4.65 (1H, d, J = 3.2 Hz), 6.91 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.52 (1H, s), 7.82 (1H, d, J = 9.3 Hz)。

【0046】ステップ5

N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-2-((6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-イル)カルボニルアミノ)-3-メチルブタンアミド (1.11 g, 2.26 mmol) をアセトン 110 mL に溶解し、さらにビス(アセトニト

(8)

特開2000-191616

13

リル)ジクロロパラジウム(II)(0.03g, 0.11mmol)を加え室温にて終夜撹拌した。反応液は減圧下、溶媒を留去したのち酢酸エチル200mLに溶解し、1規定塩酸100mLで2回、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液100mLで1回、および飽和食塩水100mLで1回洗浄した。得られた有機層を硫酸マグネシウムで乾燥したのち、溶媒を減圧除去し、生成混合物を粘着性オイルとして1.18g得た。これをヘキサン:酢酸エチル=1:1を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、2-((6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-イル)カルボニルアミノ)-3-メチル-N-(1-(2-メチルプロピル)-2-オキソエチル)ブタンアミド(0.2g, 20%; 化合物1)を白色結晶で得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 0.33 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.53 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.83 (3H, d, J = 6.3 Hz), 0.86 (3H, d, J = 6.3 Hz), 1.32-1.36 (1H, m), 1.40 (3H, s), 1.49-1.88 (4H, m), 1.95 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.09 (3H, s), 2.25-2.56 (3H, m), 4.07-4.14 (1H, m), 4.23 (1H, dd, J = 9.9, 4.9 Hz), 6.87 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.52 (1H, s), 8.44 (1H, d, J = 6.9 Hz), 9.36 (1H, s).

融点: 165~166°C.

【0047】実施例2 2-((3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシフェニル)カルボニルアミノ)-3-メチル-N-(1-(2-メチルプロピル)-2-オキソエチル)ブタンアミド(化合物2)

ステップ1

(S)-(+)-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸の代わりに、3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシ安息香酸(5.0g, 19.97mmol)をもちいて実施例1のステップ3と同様の操作をおこない、2,5-ジオキソピロリジニル3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシベンゾエート(2.43g, 35%)を白色結晶で得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 1.39 (18H, s), 2.84 (4H, s), 7.82 (2H, s), 8.27 (1H, s).

【0048】ステップ2

2,5-ジオキソピロリジニル-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボキシレートの代わりに、2,5-ジオキソピロリジニル-3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシベンゾエート(0.85g, 2.44mmol)をもちいて実施例1のステップ4と同様の操作をおこない、2-((3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシフェニル)カルボニルアミノ)-N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチルブタンアミド(0.50g, 42%)を白色固体として得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 0.76-0.90 (12H, m), 1.13-1.32 (2H, m), 1.38 (18H, s), 1.54-1.59 (1H, m),

14

2.04-2.11 (1H, m), 3.84-3.71 (4H, m), 3.97-4.04 (1H, m), 4.22 (1H, t, J = 8.6 Hz), 4.70 (1H, d, J = 3.4 Hz), 5.93 (0.5H, s), 7.36 (0.5H, s), 7.51 (2H, s), 7.59 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.99 (1H, d, J = 8.7 Hz).

【0049】ステップ3

N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-2-((6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-イル)カルボニルアミノ)-3-メチルブタンアミドの代わりに、2-((3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシフェニル)カルボニルアミノ)-N-(1-(2,5-ジオキソラニル)-3-メチルブチル)-3-メチルブタンアミド(0.50g,

1.02mmol)をもちいて実施例1のステップ5と同様の操作をおこない、生成混合物をオイルとして0.50g得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィーでクロロホルム:メタノール=9:1を用いて精製し白色粉末として、2-((3,5-ビス(tert-ブチル)-4-ヒドロキシフェニル)カルボニルアミノ)-3-メチル-N-(1-(2-メチルプロピル)-2-オキソエチル)ブタンアミド(0.07g, 15%; 化合物2)を得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 0.81-0.94 (12H, m), 1.20-1.63 (21H, m), 2.11 (1H, m), 4.10 (1H, m), 4.27 (1H, t, J = 8.4 Hz), 7.54 (2H, s), 8.09 (1H, d, J = 7.3 Hz), 8.40 (1H, d, J = 7.6 Hz), 9.39 (1H, s). 融点: 213~215°C.

【0050】試験例1 カルバイン阻害活性の測定

(試験方法) μ -カルバイン(ナカライテスク社)の活性は文献[Anal. Biochem., 208巻, 387~392頁(1993年)]に記載された方法に準じて測定した。即ち、カゼイン(0.5mg/mL), 50mMトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩酸(pH7.4), ジチオスレート(10mM), μ -カルバイン(0.03酵素単位)を含む反応液200 μ Lに種々の濃度の被験薬を含むジメチルスルホキシド溶液2.5 μ Lと20mM塩化カルシウム水溶液50 μ Lを添加し反応を開始した。30°C, 60分間反応させた後、反応液100 μ Lを別の容器に移し、精製水50 μ Lと50%クマシールリアントブルー溶液100 μ Lを加えて室温で15分間放置した後、595nmで吸光度を測定した。被験薬を含まないジメチルスルホキシド溶液2.5 μ Lを添加し、同様に処理した後測定したものをコントロール値、20mM塩化カルシウムの代わりに1mMエチレンジアミン四酢酸二ナトリウムを添加したものをブランク値とし、以下の式により阻害率を計算し、50%阻害に必要な量(IC₅₀)を求めた。なお、被験薬は化合物1および2を、対照薬はロイペプチンを用いた。

阻害率 = {1 - (測定値 - ブランク値) / (コントロール値 - ブランク値)} × 100

(9)

特開2000-191616

15

16

【0051】(試験結果)カルバイン阻害活性(IC₅₀)を表1に示す。本試験結果は、本発明のペプチド誘導体がカルバイン阻害活性を持つ事を示す。*

	50%酵素阻害濃度 (IC ₅₀) (μ M)
化合物1	0.30
化合物2	0.90
ロイペプチン	0.21

【0053】試験例2 フリーラジカル捕獲活性 ※ールを使用した。
(試験方法) Blois らの方法 [Blois, M.S., Nat. 10 ure (London), 181巻, 1199頁 (1967年)] に従い、
1. 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (0.1 mM; 以下DPPHと略記) のエタノール溶液0.9 mLに被験薬溶解溶液を0.1 mL添加し、20分後に517 nmの吸光度を測定した。消去活性は実施例化合物の不存在下の吸光度に対する減少率より求めた。なお、被験薬は化合物1および2を、対照薬は α -トコフェロール※

【0054】(試験結果) 化学的に安定なフリーラジカルDPPHの消去活性の結果を表2に示した。本試験結果は、本発明のペプチド誘導体が α -トコフェロールとほぼ同等のフリーラジカル捕獲能を有する事を示すものである。
【0055】表2】

	吸光度減少率 (%)			
	1 (μ M)	10 (μ M)	100 (μ M)	1000 (μ M)
α -トコフェロール	101	87	11	11
化合物1	103	101	88	89
化合物2	102	86	14	9

【0056】製剤例1 錠剤

化合物1 50 mg
乳糖 80 mg
デンプン 17 mg
ステアリン酸マグネシウム 3 mg
結晶セルロース 10 mg

以上の成分を1錠分の材料として、常法により錠剤を成形した。この錠剤は必要に応じて通常用いられる腸溶性剤皮(例えばフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース等)、糖衣およびフィルム(例えばエチルセルロース等)でコーティングしてもよい。

【0057】製剤例2 カプセル剤

化合物2 75 mg
マンニト 75 mg
デンプン 17 mg ★

★ステアリン酸カルシウム

3 mg

以上の成分を1カプセル剤の材料として均一に混合し、常法により顆粒状とし、硬カプセルに充填した。この充填する顆粒は必要に応じて通常用いられる腸溶性剤皮(例えばフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース等)、糖衣およびフィルム(例えばエチルセルロース等)でコーティングしてもよい。

【0058】製剤例3 懸濁注射剤

化合物2 750 mg
カルボキシメチルセルロースナトリウム 500 mg
注射用蒸留水 全量 100 mL
以上の成分を常法により無菌的に混和して懸濁注射剤とした。

【0059】

製剤例4 水性懸濁点眼剤

化合物1 0.5 g
ヒドロキシプロピルメチルセルロース 0.1 g
塩化ナトリウム 0.9 g
リン酸2水素ナトリウム・2水和物 0.1 g
塩化ベンザルコニウム 0.005 g
0.1 N水酸化ナトリウム 適量 (pH 7.2)
精製水 全100 mL

精製水約80 mLにヒドロキシプロピルメチルセルロースを加温して分散させた後、室温まで冷却して溶かした。この溶液に塩化ナトリウム、リン酸2水素ナトリウム・2水和物および塩化ベンザルコニウムを加えて溶か

し、0.1 N水酸化ナトリウムを加えpHを7.2に調整した。この液に化合物1を添加し、ホモジナイザーにより均一に懸濁させた。精製水を加え、全量100 mLとし、水性懸濁点眼剤を調整した。

(10)

特開2000-191616

17

18

【0060】

【発明の効果】本発明の化合物は、フリーラジカル捕捉活性およびカルバイン阻害活性を併せ持つため、当該化合物を含有する医薬はフリーラジカルおよびカルバインに起因して誘発される細胞障害の予防および治療剤として有利に利用できる。従って、フリーラジカルおよびカ*

*ルバインに起因して誘発される細胞障害に起因する各種疾病、例えば白内障、網膜障害、遺伝変性的疾患、黄斑部変性、眼球虚血、血管新生疾患、緑内障、虚血再灌流損傷、光学的損傷、および、目の手術による損傷、虚血性神経細胞障害等の予防および治療剤として有用である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	識別記号	F I	キーワード(参考)
A 6 1 K 31/35	6 0 3	A 6 1 K 31/35	6 0 3
C 0 7 D 307/84		C 0 7 D 307/84	
307/87		307/87	
311/66		311/66	

F ターム(参考) 4C037 QA10 QA15
 4C062 FF73
 4C086 AA01 AA02 AA03 BA05 BA06
 BA08 ZB21 ZC20 ZC41
 4C206 AA01 AA02 AA03 GA07 GA25
 ZC20 ZC41
 4H006 AA01 AA03 AB20 BJ50 BQ10
 BV72